UNIVERSITE DE TOULOUSE

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1964

N° 79

DOSAGE BIOLOGIQUE DE L'ANGIOTENSINE ET DES CATECHOLAMINES PAR LA METHODE DE HELMER

THESE

POUR LE DOCTORAT EN MEDECINE

présentée et soutenue publiquement en Juin 1964

par

VIOLETTE PEREZ

Monitrice Adjointe de Physiologie

MEMBRES DU JURY :

MM. Yves LAPORTE *Président*

PLANQUES

DARDENNE *Assesseurs*

CALAZEL

BESSOU *Suppléant*

CENTRE D'EDITIONS UNIVERSITAIRES DE L'A.G.E.T.

UNIVERSITE DE TOULOUSE

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1964

N° 79

DOSAGE BIOLOGIQUE DE L'ANGIOTENSINE ET DES CATECHOLAMINES PAR LA METHODE DE HELMER

THESE

POUR LE DOCTORAT EN MEDECINE

présentée et soutenue publiquement en Juin 1964

par

VIOLETTE **PEREZ**

Monitrice Adjointe de Physiologie

MEMBRES DU JURY :

MM. Yves LAPORTE — *Président*

PLANQUES
DARDENNE
CALAZEL — *Assesseurs*

BESSOU — *Suppléant*

CENTRE D'EDITIONS UNIVERSITAIRES DE L'A.G.E.T.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546523_0077

UNIVERSITE DE TOULOUSE — *FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE*

TABLEAU DU PERSONNEL

Doyen : *Monsieur LAZORTHES*
1er Assesseur : *Monsieur BLANC*
2ème Assesseur . *Monsieur SOREL*
Doyens honoraires : *Messieurs GORSE, CALVET, LEFEBVRE, BRUSTIER*
Professeurs honoraires : *MM. RIBAUT, VALLOIS, TAPIE, DELAS, RISER, BONHOURE, BUGNARD.*

SECTION MEDECINE

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN

PROFESSEURS

Clinique médicale	M. MERIEL
Clinique médicale	M. GADRAT
Clinique chirurgicale et gynécologique	M. FABRE Pierre
Clinique chirurgicale et du cancer	M. GRIMOUD
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	M. VIRENQUE
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	M. BAZEX
Clinique des maladies de la tuberculose et path.interne	M. MOREL
Clinique des Maladies des voies urinaires	M. LHEZ
Clinique médicale infantile et puériculture	M. SOREL
Clinique médicale de la 1ère Enfance	M. BARDIER
Clinique de neuro-chirurgie	M. LAZORTHES
Clinique neurologie et psychiatrique	M. GERAUD
Clinique obstétricale	M. GUILHEM Paul
Clinique odonto-stomatologique	M. CADENAT
Clinique ophtalmologique	M. CALMETTES
Clinique ORL et chirurgie maxillo-faciale	M. CALVET
Clinique traumatologique des membres	M. RIEUNAU
Clinique rhumatologique	M. RUFFIE René
Accouchement et obstétricie sociale	M. PONTONNIER
Anatomie	M. THOMAS
Anatomie appliquée	M. POULHES

Anatomie Pathologique	M. FABRE Jacques
Bactériologie, Hygiène et Médecine sociale	M. ANDRIEU
Biophysique Médicale	M. AUVERGNAT
Chimie biologique	M. VALDIGUIE
Electro-radiologie	M. MARQUES
Embryologie générale	M. BROUSSY Jean
Histologie	M. BIMES
Hydrologie thérapeutique et climatologie	M. DARNAUD
Médecine légale et médecine du travail	M. PLANQUES
Médecine sociale	M. MONNIER
Parasitologie	M. BOUISSET
Pathologie chirurgicale	M. DAMBRIN
Pathologie générale et médecine expérimentale	M. SENDRAIL
Physico-chimie	N.
Physiologie	M. LAPORTE Yves
Physiologie appliquée et pharmacologie	M. BAISSET
Propédeutique médicale	M. LAPORTE Jacques
Thérapeutique	M. DARDENNE

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

Anatomie générale et comparée	M. COULOUMA
Bactériologie	Mme ENJALBERT
Biochimie médicale	M. DOUSTE-BLAZY
Maladies infectieuses	M. ARMENGAUD
Oto-Rhino-Laryngologie	M. CLAUX
Pathologie médicale	M. BOULARD
Pathologie chirurgicale	M. LAGROT
Physique médicale	M. BRU

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Histologie et Embryologie	M. PLANEL
Ophtalmologie	M. DEODATI
Parasitologie	M. RUFFIE Jacques
Physiologie	M. MONTASTRUC

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Anatomie	M. BASTIDE
Anatomie Pathologique	M. BOUISSOU
Anesthésiologie	M. LARENG
Carcinologie	M. ESTRADE
Chirurgie générale	M. ENJALBERT
- -	M. GEDEON
- -	M. SARRAZIN
- -	M. SOUQUET
Electroradiologie	M. PONS
Hématologie	M. DUCOS
Histologie et embryologie	M. GUILHEM André
Pathologie expérimentale	M. GLEIZES
Physiologie	M. BESSOU
Physique médicale	M. COMMANAY
Pneumo-phtisiologie	M. MIGUERES

AGREGES

Médecine générale	M. RIBAUT
-	M CALAZEL
-	M. RASCOL
-	M. LE TALLEC
-	M. RIBET
Chirurgie générale	M. FICAT
-	M. PASQUIE
-	M. GAUBERT
Dermatologie et syphiligraphie	M. DUPRE
Hydrologie	M. DENARD
Médecine légale	M. GREZES-RUEFF
Neurochirurgie	M. ESPAGNO Jacques
Neurologie et psychiatrie	M. GAYRAL
Obstétrique	M. ESPAGNO Guy
Ophtalmologie	M. BEC
Pneumo-phtisiologie	M. DELAUDE

AGREGES LIBRES

Anatomie	M. THOMAS
Pathologie chirurgicale	M. DIEULAFE

SECTION PHARMACIE

PROFESSEURS

Botanique et cryptogamie	Mme DULUCQ-MATHOU
Chimie analytique, toxicologie et hygiène industrielle	M. BOURBON
Chimie pharmaceutique	M. BLANC
Matière médicale	M. VINCENT
Pharmacie chimique et pharmacodynamie	M. CAUJOLLE
Pharmacie galénique	M. STANISLAS
Zoologie	M. ROUX

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

Botanique	M. ROQUES
Pharmacie	M. COUTURIER
Sciences Naturelles	Mme CAUJOLLE

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Microbiologie	M. BREUILLAUD
Sciences Physiques	M. PITET

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Toxicologie	M. BROUSSY Georges

PERSONNEL ADMINISTRATIF

Secrétaire Principal	M. ROCHE
Secrétaire	M. BERRUT

La Faculté déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats. (Délibération en date du 12 Mai 1891).

A MES PARENTS

A MA SOEUR, A MES FRERES

A MES AMIS

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR YVES LAPORTE
Professeur de Physiologie

Vous nous avez accueillie dans votre Laboratoire, vous nous avez permis d'entreprendre ce travail et l'avez facilité.

Veuillez trouver ici l'expression de notre plus profonde reconnaissance et de notre déférent attachement.

A NOS JUGES

MONSIEUR LE PROFESSEUR PLANQUES

Professeur de Médecine Légale et de Médecine du Travail
Médecin des Hôpitaux
Chevalier de la Légion d'Honneur

Nous nous permettons de vous assurer de notre sincère dévouement et de notre reconnaissance pour l'enseignement que vous nous avez patiemment prodigué, et pour nous avoir permis d'entrevoir le rôle social et humain du médecin.

MONSIEUR LE PROFESSEUR DARDENNE

Professeur de Thérapeutique
Médecin des Hôpitaux

Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude pour votre enseignement clair et précis, et pour l'honneur que vous nous faites de siéger à notre Jury.

MONSIEUR LE PROFESSEUR CALAZEL

Professeur Agrégé de Médecine Générale

Nous sommes très honorée de votre présence dans le Jury de notre Thèse,

Soyez assuré de notre profonde gratitude.

MONSIEUR LE PROFESSEUR BESSOU

Maître de Conférence
Agrégé de Physiologie

Veuillez être assuré de toute notre reconnaissance pour les conseils que vous nous avez prodigués et pour votre bienveillante sollicitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BAISSET

Professeur de Physiologie Appliquée et de Pharmacologie
Chevalier de la Légion d'Honneur

Nous nous permettons d'exprimer notre reconnaissance pour votre enseignement et vos conseils.

QUE MONSIEUR LE PROFESSEUR MONTASTRUC

Professeur sans chaire
Directeur de l'Institut Régional d'Education Physique
et Sportive de l'Université de Toulouse
Docteur ès Sciences

Veuille trouver ici le témoignage de notre gratitude pour son enseignement et ses encouragements.

A TOUS CEUX QUI ONT APPORTE LEUR PARTICIPATION DANS LA REALISATION DE CE TRAVAIL

AVANT-PROPOS

Ce travail a été fait au Laboratoire de Physiologie de la Faculté de Médecine de Toulouse sous la direction de Monsieur le Docteur J. P. GERAL, Chef de Travaux de Physiologie. Le Docteur GERAL après m'avoir appris la technique de dosage des substances vaso-constrictrices par leur action sur l'aorte isolée de Lapin, m'a confié ce travail. J'ai fait mon possible pour le mener à bien et je lui exprime toute ma gratitude.

Je remercie vivement Monsieur le Professeur MERIEL et le Docteur SUC ainsi que Monsieur le Professeur P. GUILHEM qui m'ont communiqué les renseignements cliniques concernant les malades choisis pour illustrer l'intérêt de cette méthode appliquée au dosage biologique de l'angiotensine dans le sang et des catécholamines dans les urines.

Je remercie Madame CARRERE, collaboratrice technique au C.N.R.S., pour l'aide efficace qu'elle a apporté à la réalisation de ce travail.

CHAPITRE I

DESCRIPTION DE LA METHODE DE MESURE DES SUBSTANCES VASO-CONSTRICTRICES

A — MOYEN DE MESURE UTILISE

La technique utilisée est celle décrite par FURCHGOTT et BHADRAKOM (1953). Elle consiste à enregistrer et à mesurer la contraction des fibres musculaires lisses d'une aorte de Lapin sous l'action de substances vaso-constrictrices. Le raccourcissement aortique est mesuré à l'aide d'un myographe isotonique. L'aorte est maintenue en vie dans une chambre à organe isolé.

1 — Préparation de l'aorte isolée de Lapin selon la méthode de Furchgott et Bhadrakom -

On utilise des Lapins de deux kilogrammes à deux kilogrammes et demi qui sont assommés et saignés rapidement par section d'une artère carotide.

L'aorte thoracique descendante et abdominale est prélevée jusqu'au tronc coeliaque. Elle est débarassée du tissu conjonctif et graisseux qui l'entoure et transformée en ruban par une incision en spirale. Pour cela, l'aorte est tenue entre deux doigts et on la fait tourner lentement sur elle-même en incisant sa paroi. Le trajet de l'incision fait un angle de quinze degrés avec l'axe des fibres musculaires circulaires. On obtient ainsi un ruban d'une dizaine de centimètres de long et de trois millimètres de large dans lequel les fibres musculaires circulaires font un angle d'environ quinze degrés avec l'axe longitudinal. On prélève pour le dosage des fragments de quatre à cinq centimètres de long. Il faut éviter soigneusement d'étirer le ruban aortique.

Pendant cette opération l'aorte est maintenue dans un bain de solution de KREBS oxygénée.

2 – Description de l'appareil d'enregistrement.

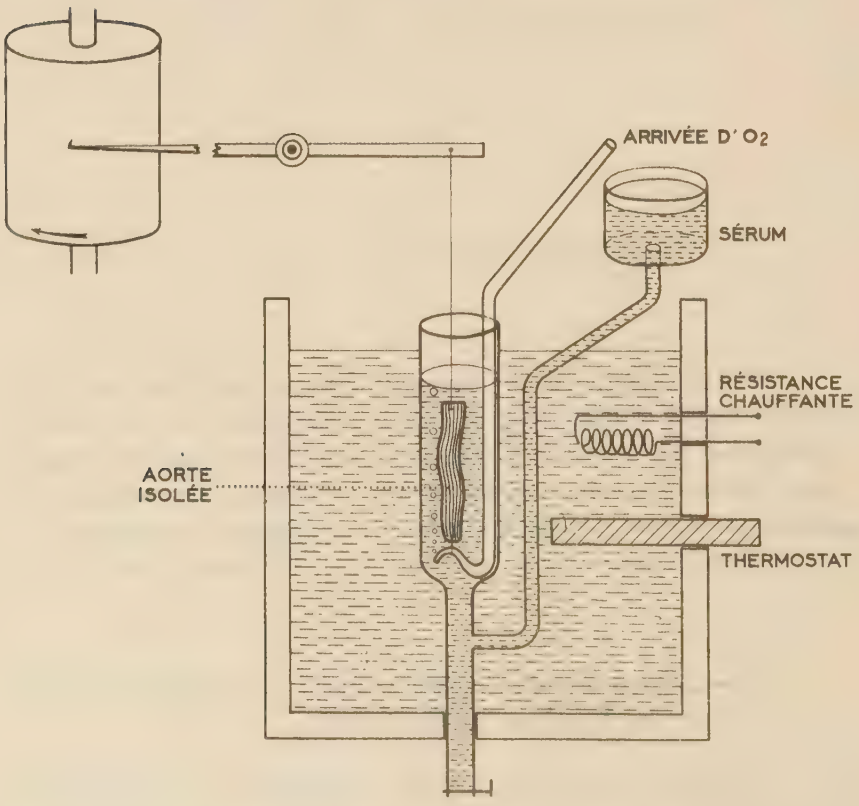


FIG. 1 – Schéma de l'appareillage permettant la survie de l'aorte isolée et l'enregistrement de ses contractions.

Le ruban aortique ainsi préparé est monté dans une chambre à organe isolé. Sa longueur est enregistrée par myographie isotonique. Le ruban est placé verticalement, son extrémité inférieure est fixe, l'extrémité supérieure mobile est reliée à un bras de levier (figure 1). La fixation est assurée par des hameçons inoxydables.

Le levier, mobile autour d'un axe horizontal, est équilibré de façon à exercer une tension constante de quatre grammes sur le ruban aortique. Son rôle est d'enregistrer et d'amplifier les mouvements de l'aorte. La longueur relative de ses bras permet d'amplifier neuf fois la contraction. L'extrémité libre est munie d'une plume inscriptrice chauffante dont le contact noircit un papier thermo-sensible. Le papier est fixé sur un cylindre animé d'un mouvement de rotation à vitesse lente et constante.

La plume est formée par un fil résistant fixé à l'extrémité du stylet et alimenté en courant électrique sous une tension de 2 volts par deux fils conducteurs légers, contenus dans le stylet. Le stylet est fait d'une paille creuse.

Les contractions de l'organe isolé développent une force très petite, de sorte que le frottement constant du stylet sur le papier gênerait son déplacement. Un vibreur à électro-aimant a été fixé sur une des faces de la cuve à organe isolé . Les vibrations qu'il produit sont transmises à l'extrémité du stylet ce qui facilite le glissement de la plume sur le papier.

Afin d'éviter toute traction intempestive sur l'aorte, pendant la mise en place de la préparation, un système à crémaillère permet de mobiliser l'axe du levier dans le sens vertical ; une noix articulée assure des mouvements horizontaux de faible amplitude. On peut ainsi mobiliser l'appareil inscripteur sans secousses.

3 – Description de l'appareil à organe isolé

Pour assurer la survie de ce fragment d'aorte, on le place au sein d'un milieu de composition constante, dans une chambre à organe isolé.

Le milieu doit remplir des conditions précises. Il doit être isotonique et contenir en proportions convenables les différents ions Na, K, Ca, assurer la nutrition de l'organe, avoir son pH maintenu à 7,40 et sa température à 37° C. On utilise le liquide de KREBS bicarbonaté, enrichi de 0,01 M de glucose (KREBS, 1950).

La chambre à organe isolé est une éprouvette de 20 millilitres. Elle est munie d'une ouverture inférieure qui permet de la vider, et d'une entrée latérale, par où arrive le liquide de KREBS contenu dans un réservoir. On peut ainsi renouveler à volonté le milieu.

Une tubulure en verre apporte constamment un mélange gazeux de 95 °/° d'O_2 et de 5 °/° de CO_2, à raison d'une bulle par seconde. Le mélange est fourni par une bouteille de gaz comprimé et son débit est réglé par un mano-détendeur. Cet apport gazeux est destiné à oxygéner le milieu et à maintenir le pH constant. Le liquide de KREBS bicarbonaté en présence de CO_2 est un système tampon dont le pH est constant à 7,4. L'extrémité de la tubulure en verre est recourbée et sert à fixer l'extrémité inférieure du ruban aortique.

La chambre à organe isolé est elle-même plongée dans un bain maintenu à la température constante de 37° par une résistance chauffante dont le fonctionnement est réglé par un thermostat. Le liquide de KREBS avec lequel on renouvelle périodiquement le contenu de la chambre à organe isolé est porté à 37° avant d'être mis au contact de l'aorte. Le réchauffement se fait dans un tube de verre spiralé interposé entre le réservoir de liquide et la cuve, et plongé dans le bain thermostatique.

B — UTILISATION DE L'APPAREILLAGE

Pendant la durée de l'expérience, la surveillance de la température et du débit de gaz doit être rigoureuse. Il faut d'autre part renouveler fréquemment le liquide où baigne l'aorte et veiller à ce qu'elle soit en permanence immergée.

Le corps vaso-constricteur est en solution liquide. Grâce à une pipette jaugée, une certaine quantité de solution mesurée est introduite à la partie supérieure de la cuve où elle se mélange au sérum dans lequel baigne l'artère.

On le laisse agir jusqu'à ce que la contraction de l'aorte soit maximale, puis on lave la préparation soit en vidant la cuve par le tube inférieur et en la remplissant immédiatement par du liquide de KREBS amené par la tubulure latérale, soit en faisant parvenir par cette voie un excès de liquide de KREBS qui s'écoule par l'ouverture supérieure.

C — RESULTATS

Sous la traction constante de 4 grammes exercée par le levier, le ruban aortique s'étire progressivement pendant 120 à 150 minutes. Cet étirement est d'abord rapide puis de plus en plus lent. L'allongement du ruban est environ de 20 °/° de la longueur initiale. Au bout de deux heures, lorsque l'étirement maximal est obtenu, la longueur de l'aorte ne varie plus, le tracé inscrit est rectiligne et horizontal. Les fibres musculaires lisses aortiques ne manifestent aucune activité automatique.

L'application de corps vaso-constricteurs provoque un raccourcissement du ruban aortique, un déplacement vers le haut du

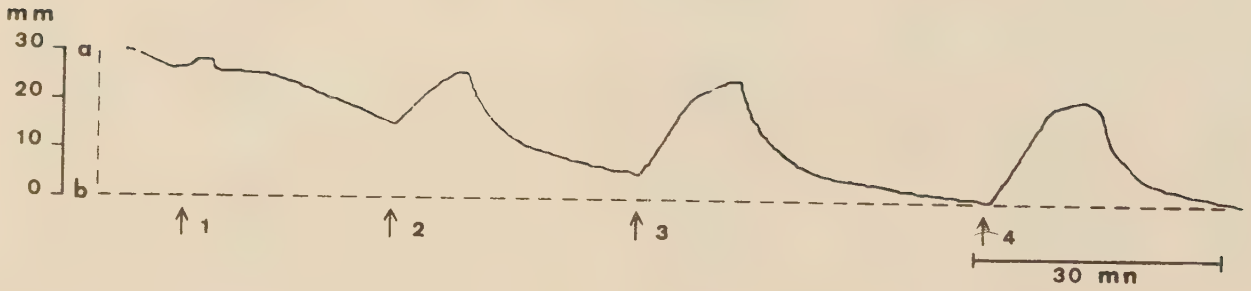


FIG. 2 : Enregistrement, au cours de son relâchement, des contractions de l'aorte sous l'effet de doses égales d'hypertensine. (1,3 ng/ml) - L'échelle donne en millimètre l'ascension du stylet a b indique le relâchement aortique effectué en 2 heures 15 minutes.

stylet inscripteur et une dénivellation du tracé. Le déplacement est mesuré par rapport au tracé de repos ou ligne de base. On ne peut pas commencer les dosages avant que l'aorte ne soit complètement relâchée car l'aorte se contracte d'autant mieux qu'elle est plus complètement relâchée.

Ainsi, des doses égales de substances vaso-constrictrices appliquées sur une aorte en train de se relâcher provoquent des élévations successives du stylet, telles que le sommet de la courbe atteint chaque fois la même hauteur, mais la dénivellation par rapport à la ligne de base est moindre pour des contractions observées pendant le relâchement que pour celles qui se produisent quand le relâchement est complet (*figure 2*).

Les effets de deux substances vaso-constrictrices, l'angiotensine et l'adrénaline ont été étudiés. L'angiotensine utilisée était l'amide de la valine 5 angiotensine II, fabriquée par le Laboratoire Ciba, Bâle, Suisse, sous le nom d'hypertensine .*(1)*

La contraction déclenchée par une dose unique d'angiotensine débute quelques secondes après sa mise au contact de l'aorte. Le raccourcissement est d'abord rapide puis se ralentit peu à peu Le sommet de la courbe est atteint en dix minutes environ. Cette durée est la même quelle que soit la dose employée. Si on laisse agir l'angiotensine, la contraction se maintient pendant un certain temps puis le muscle se relâche très lentement. En pratique dès que le maximum est atteint, on lave la préparation et l'aorte se relâche . Le stylet revient à la ligne de base, d'abord rapidement , puis plus lentement. La durée de cet allongement varie avec l'amplitude de la contraction.

L'application de doses égales et répétées d'angiotensine provoque une série de contractions de même amplitude. Il n'y a pas de tachyphylaxie à l'angiotensine.

Les contractions obtenues avec des doses fortes sont plus

(1) - Nous remercions le Laboratoire CIBA qui nous a gracieusement fourni l'hypertensine.

amples que celles obtenues avec des doses faibles *(figure 3)*.

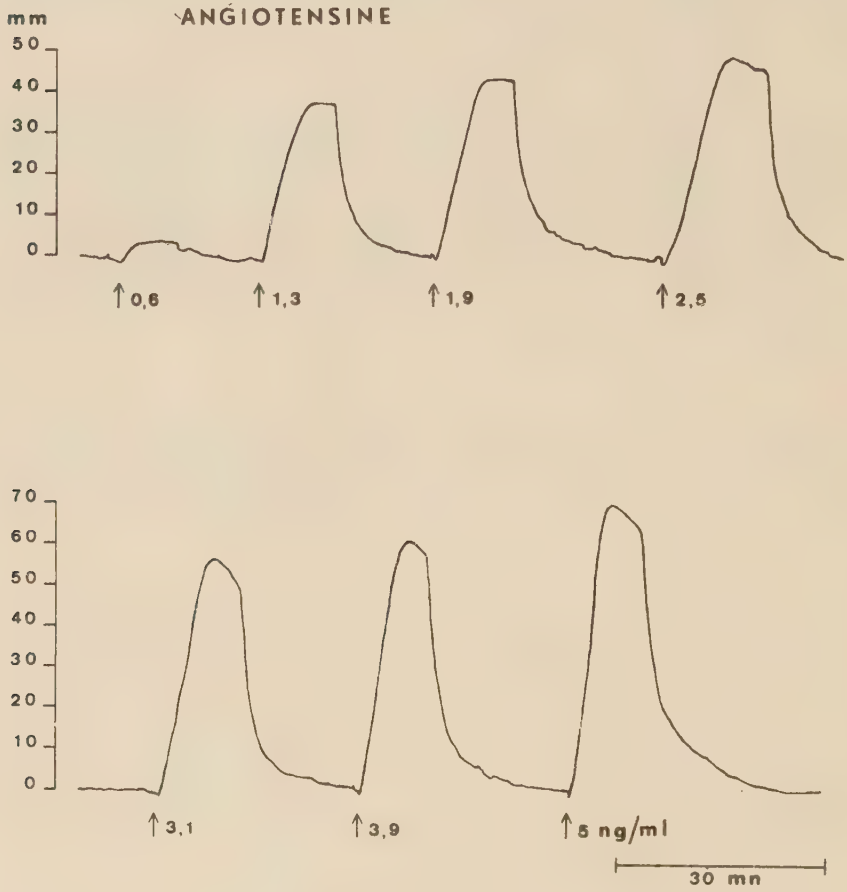


FIG. 3 - Enregistrement des contractions de l'aorte sous l'effet de doses croissantes d'angiotensine (hypertensine Ciba).

La concentration d'angiotensine dans la cuve à organe isolée est exprimée en nanogramme par millilitre. L'échelle donne en millimètres l'ascension du stylet.

L'ascension du stylet inscripteur dans le premier cas est plus rapide mais la durée de la contraction reste la même quelle que soit la dose. Après des contractions amples provoquées par des doses fortes, on observe que le relâchement de l'aorte est beaucoup plus

lent et que la sensibilité de l'aorte diminue. Cette diminution de la sensibilité n'est pas due à un phénomène de tachyphylaxie, elle résulte probablement de la fatigue des fibres musculaires lisses.

La représentation graphique en coordonnées linéaires de l'amplitude de la contraction, exprimée par le déplacement du stylet en millimètres, en fonction de la concentration de l'angiotensine dans le liquide où baigne l'aorte, exprimée en nanogramme par millilitre, est une courbe d'allure exponentielle.

Mais à partir d'une dose dite maximale, l'amplitude des contractions cesse d'augmenter.

La représentation graphique obtenue en portant l'amplitude de la contraction sur une échelle arithmétique et la concentration d'angiotensine sur une échelle logarithmique est une ligne droite *(figure 4).*

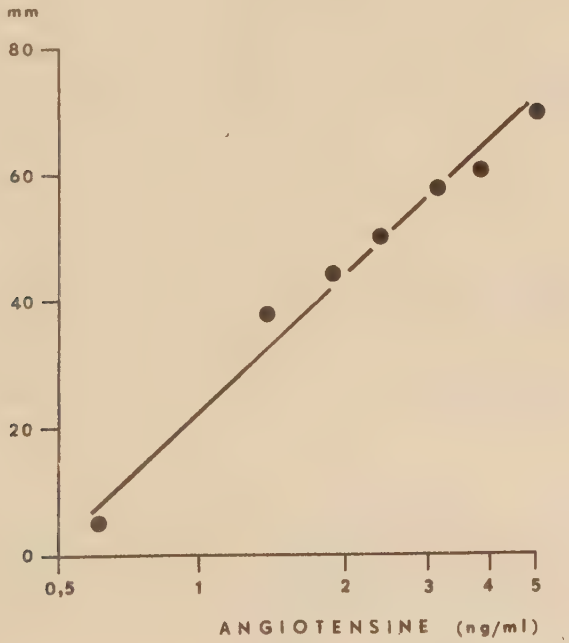


FIG. 4 - Amplitude des contractions de l'aorte en fonction de concentrations croissantes d'angiotensine (hypertensine Ciba) -
En ordonnée : déplacement du stylet en millimètres.
En abscisse : concentration d'angiotensine en nanogramme par millilitre.
Echelle semi-logarithmique.

La contraction de l'aorte obtenue par application d'adrénaline diffère de celle que provoque l'angiotensine. Elle débute plus précocement et se développe plus rapidement. *(figure 5).*

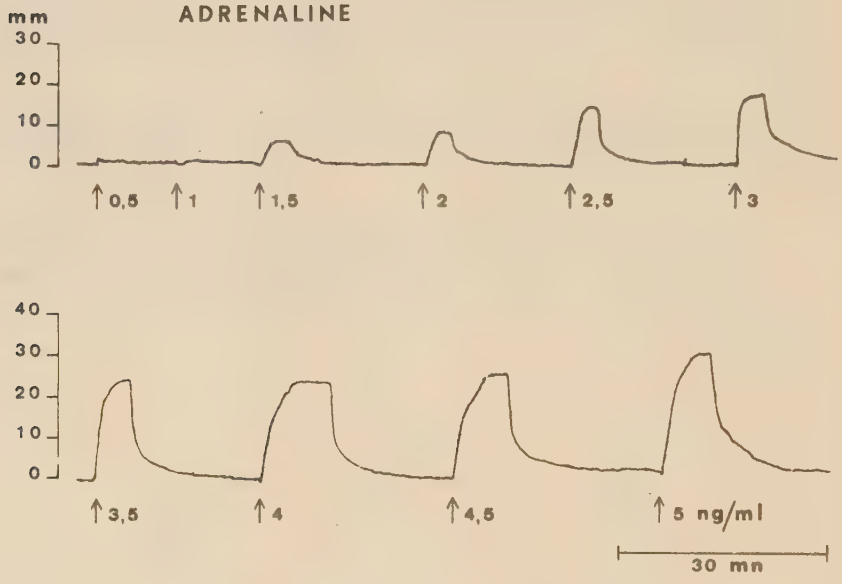


FIG. 5 - Enregistrement des contractions de l'aorte sous l'effet de doses croissantes d'adrénaline.

La concentration d'adrenaline dans la cuve à organe isolé est exprimée en nanogramme par millilitre. L'échelle donne en millimètres l'ascension du stylet.

La relation graphique entre la hauteur de la contraction et le logarithme de la concentration de l'adrénaline appliquée à l'aorte est une courbe qui a très approximativement la forme d'un S *(figure 6).*

Des courbes du même type ont été précédemment observées par FURCHGOTT et BHADRAKOM en 1953 et par LITTER en 1954.

DALLEMAGNE (1954) a obtenu une relation linéaire mais il avait utilisé des doses comprises entre des limites étroites.

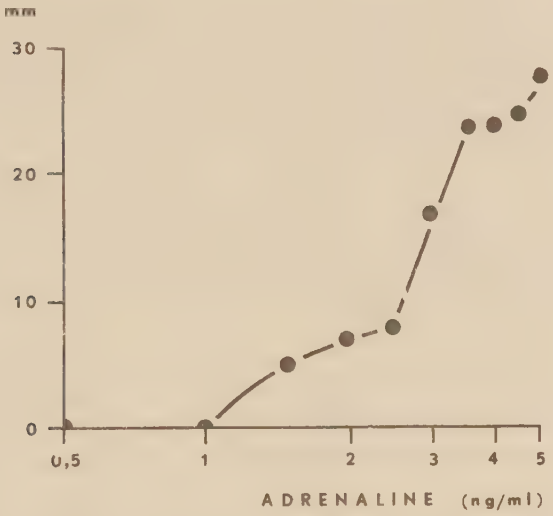


FIG. 6 - Amplitude des contractions de l'aorte en fonction de concentrations croissantes d'adrénaline.

En ordonnée : déplacement du stylet en millimètres.
En abscisse : concentration d'adrénaline en nanogramme par millilitre.
Echelle semi-logarithmique.

L'application répétée d'adrénaline entraîne le développement rapide d'une tachyphylaxie.

D - SENSIBILITE DE LA METHODE

La sensibilité du tissu musculaire aortique varie beaucoup d'un animal à l'autre. Les fragments de tissu prélevés dans la partie distale de l'aorte thoracique sont plus sensibles que ceux découpés dans l'aorte proximale, près de la crosse.

BEVAN (1960) a étudié systématiquement la sensibilité de l'aorte et montré qu'elle était relat vement indépendante de la tension exercée sur elle.

La sensibilité est maximale, selon cet auteur, pour des températures comprises entre 30 et 40°. Si on élève la température du bain au-delà de 40°, l'aorte se raccourcit à mesure que la température s'élève et tout dosage devient impossible.

La concentration minimale pour laquelle on observe un raccourcissement appréciable est voisine de 0,5 nanogrammes d'hypertensine synthétique par millilitre. Les aortes de sensibilité moindre n'ont pas été utilisées.

Nous n'avons pas tenté d'apprécier régulièrement au cours des dosages la réponse maximale et d'exprimer les résultats en pourcentage de cette contraction. En effet, les raccourcissements importants sont suivis d'une période de relâchement très longue et d'une diminution de la sensibilité qui rendent difficiles de nouvelles mesures.

HELMER (1963) a comparé l'action de l'angiotensine naturelle et de l'hypertensive synthétique et a remarqué que la contraction produite par l'hypertensine synthétique est quatre fois moindre que celle qui est provoquée par l'angiotensine naturelle, bien que les effets in vivo de ces deux substances soient quantitativement identiques.

La concentration minimale d'adrénaline qui provoque une contraction appréciable est de 0,5 nanogrammes par millilitre.

Les divers échantillons d'aorte présentent également de grandes différences de sensibilité vis-à-vis de l'adrénaline.

Il n'existe pas de parallélisme entre la sensibilité à l'adrénaline et la sensibilité à l'angiotensine. Un fragment d'aorte peut être très sensible à l'action de l'adrénaline et très peu à l'angiotensine.

CHAPITRE II

APPLICATIONS PRATIQUES

A — DOSAGE DE L'ANGIOTENSINE DANS LE SANG

L'intérêt du dosage de l'angiotensine chez l'Homme tient au rôle que ce polypeptide joue dans certaines affections. On le considère en effet comme responsable de certaines hypertensions d'origine rénale et l'on pense depuis peu qu'il intervient dans le mécanisme de certains oedèmes.

L'angiotensine résulte de l'activité enzymatique de la rénine sur des protéines sanguines du groupe des « 2 globulines. Par elle-même la rénine, qui est sécrétée par le rein n'a pas d'action sur les fibres musculaires lisses et n'est pas dosable. L'angiotensine au contraire a une activité vasoconstrictrice ce qui permet de la mettre en évidence par des méthodes biologiques. L'angiotensine est donc

la conséquence de l'activité enzymatique de la rénine de sorte qu'en dosant l'angiotensine on peut mettre en évidence le rôle de la rénine et du rein dans certains syndrômes hypertensifs ou oedémateux.

1 - Le système rénine-angiotensine

a) Rappel historique

La constatation d'une activité pressive d'origine rénale est ancienne.

TIGERSTEDT et BERGMAN en 1897 montrèrent l'effet hypertensif d'extraits salins de rein et appelèrent rénine cette substance hypertensive rénale. GOLDBLATT en 1934, provoqua des hypertensions expérimentales en modifiant l'irrigation du rein. Il plaçait à demeure un clamp en argent autour de l'artère rénale d'un Chien et exerçait ainsi une constriction modérée et permanente de l'artère, faisant ainsi apparaître au bout de quelques jours une hypertension stable. L'ablation du rein ainsi traité entraîne la guérison de l'hypertension en douze à vingt quatre heures.

Cette observation, aisément reproductible, éveilla un grand intéret en faisant entrevoir la possibilité de guérir certaines hypertensions chez des sujets à rein mal vascularisé. De nombreuses interventions furent alors tentées : néphrectomie ou rétablissement d'irrigation normale chez de tels malades. Les résultats furent très inconstants et on put observer aussi bien des guérisons définitives que des échecs complets. Il devint vite évident qu'une meilleure compréhension du mécanisme de l'hypertension rénale était nécessaire. De nombreuses études expérimentales et cliniques furent entreprises pour en préciser la physio-pathologie. Un de ces moyens d'approche est le dosage de l'angiotensine. GOLDBLATT en effet attribua à un facteur humoral les effets hypertensifs qu'il observa. Cette hypothèse fut confirmée par HOUSSAY qui en 1938 provoqua une hypertension chez un Chien normal en lui greffant un rein au cou et en clampant l'artère de ce rein. De même cet auteur provoqua une hypertension chez un animal en clampant une artère rénale ; le rein ainsi traité fut ensuite greffé à un deuxième animal

chez qui on observa alors rapidement une élévation de la pression sanguine. L'hypertension artérielle ne peut alors s'expliquer que par la libération d'une substance pressive dans le sang ; toute action réflexe nerveuse étant ainsi exclue. De nombreux travaux précisèrent la nature de cet élément humoral. KOLSTAEDT, HELMER et PAGE (1938) tentèrent d'isoler la rénine et préparèrent des extraits de rein de plus en plus purifiés et actifs. Pour doser leur activité, ils perfusèrent avec ces extraits de rein une oreille de Lapin. La perfusion de produits vaso-constricteurs entraîne dans cette préparation une diminution du débit.

Ils découvrirent la nature enzymatique de la rénine. Ils perfusèrent l'organe isolé par de la rénine en solution saline et ne remarquèrent pas d'activité vaso-constrictrice. La rénine seule n'est pas active. Ils perfusèrent une oreille de Lapin avec du plasma sanguin additionné d'extrait purifié. Ils remarquèrent une vaso-constriction et une diminution du débit. Ils virent que les injections répétées développaient rapidement une tachyphylaxie, c'est-à-dire que l'effet vaso-constricteur diminuait peu à peu. L'addition isolée de plasma inactif fit réapparaître l'effet vaso-constricteur.

Ainsi l'extrait de rein purifié n'a d'activité pressive que s'il est mélangé à du plasma. La rénine libère à partir des protéines plasmatiques un corps vaso-constricteur.

Ces auteurs appelèrent angiotonin le corps actif et rénin-activator la substance plasmatique.

Parallèlement, l'école de HOUSSAY (1938) arrivait aux mêmes conclusions et appelait hypertensine le corps actif et hypertensinogène le substrat plasmatique.

L'accord se fit ensuite sur le terme d'angiotensine pour désigner le corps actif et sur le terme angiotensinogène qui est le nom des protéines plasmatiques du groupe des « 2 globulines.

b) Nature chimique de la rénine et de l'angiotensine

La rénine est une glycoprotéine de poids moléculaire élevé, non dialysable, thermolabile à 56°.

L'angiotensine apparaît sous deux formes successives : l'angiotensine I décapeptide inactif, qu'un deuxième enzyme transforme en angiotensine II, octapeptide actif responsable des effets pharmacodynamiques et qui est dosable.

Enfin un enzyme de nature mal connue : l'angiotensinase, détruit l'angiotensine ; elle se trouve dans divers tissus, surtout le rein et les globules rouges.

PAGE et ses collaborateurs en 1957 précisèrent la formule de l'angiotensine de Porc et SCHWYZER (1959) détermina celle de l'angiotensine de boeuf. Les deux formules sont voisines et l'effet biologique des deux corps est le même. L'angiotensine est formée de huit acides aminés ainsi groupés :

Asparagine - Arginine - Valine - Thyrosine - Valine - Histidine -
1 2 3 4 5 6

Proline - Phényl-alanine.
7 8

Dans l'angiotensine de Porc la valine est remplacée en position 5 par l'isoleucine.

De nombreux autres corps de formules voisines ont été synthétisés. Leur activité biologique est variable. Nous avons utilisé comme témoin la val. 5 angiotensine II synthétisée par Ciba.

Les conditions de structure chimique requises pour l'activité biologique de l'angiotensine ont été étudiées par BUMPUS et SMEBY en 1962.

Chaque acide aminé de la chaine polypeptidique a été remplacé ou détruit et les propriétés pharmacodynamiques étudiées en fonction

de ces modifications.

Ces conditions ont été résumées comme suit :

- un groupement carboxyle libre en position terminale ;
- un acide aminé à noyau phénol en position 8 ;
- un acide aminé à noyau phénol en position 4 ;
- la proline en position 7.

c) Effets pharmacologiques de l'angiotensine

1. Effets circulatoires

L'injection d'angiotensine par voie intra-veineuse élève la pression sanguine. Une dose unique provoque une élévation de la pression sanguine pendant un quart d'heure environ. Une perfusion continue maintient la pression à un niveau élevé. On n'a pas observé de tachyphylaxie. Cet effet sur la pression est dû à une vaso-constriction qui intéresse tous les territoires vasculaires y compris les territoires coronarien et pulmonaire. L'angiotensine ne provoque pas de tachycardie.

L'action vaso-constrictrice de l'angiotensine a été utilisée pour titrer indirectement la rénine. Parmi les nombreuses méthodes de titrage, la plus connue est celle de GOLDBLATT.

On appelle unité GOLDBLATT la quantité de rénine qui, injectée à un Chien normal non anesthésié provoque une élévation de la pression sanguine de trente millimètres de mercure chez trois animaux au moins. Une unité GOLDBLATT a les mêmes effets que 0,42 microgrammes d'angiotensine II sur l'animal entier.

L'angiotensine provoque aussi la contraction d'autres fibres musculaires lisses, en particulier des fibres de l'utérus et de l'intestin.

2. Effets rénaux

A des doses modérées, l'angiotensine a un effet antidiurétique. Cet effet ne se produit plus après ablation des surrénales mais reparaît si l'on injecte des extraits surrénaliens.

A doses élevées, on observe une vaso-constriction rénale et une diminution du débit sanguin.

3. Effets sur la sécrétion d'aldostérone

GENEST (1964) a montré que, chez l'Homme, l'angiotensine injectée en perfusion à des doses suffisantes pour élever la pression sanguine de 3 à 4 centimètres de Hg augmente de 2 à 10 fois le taux de l'aldostérone excrétée dans les urines et entraîne une rétention sodée. L'angiotensine a une action directe sur la surrénale. L'injection d'angiotensine dans une glande surrénale isolée provoque une abondante sécrétion d'aldostérone. L'angiotensine semble être la seule substance d'origine rénale capable de stimuler la sécrétion d'aldostérone.

d) Rôle physiologique et pathologique

1. Lieu de production de la rénine

Un certain nombre d'expériences ont permis de localiser dans la région juxta-glomérulaire, le lieu de sécrétion de la rénine.

Cette région présente une disposition morphologique particulière et constante. L'artériole afférente du glomérule voit sa paroi se différencier peu avant sa division en capillaires. Les cellules musculaires lisses sont remplacées par des cellules plus volumineuses, à aspect sécrétoire, sans myofibrilles et contenant de nombreuses granulations. Leur ensemble est appelé organe juxta-glomérulaire.

Le tubule distal du néprhon passe au contact du glomérule dans l'angle formé par lès artérioles afférentes et efférentes. Les cellules tubulaires sont à ce niveau plus hautes et différenciées : c'est la macula densa.

Entre la macula densa et le glomérule se trouvent des petites cellules groupées en amas, appelées lacis par OBERLING (1960).

Pour la plupart des auteurs la rénine serait secrétée par les cellules juxta-glomérulaires péri-artérielles et les granulations seraient des grains de sécrétion constitués de rénine ou d'un précurseur.

La teneur du rein en rénine est proportionnelle au nombre de granulations. HARTROFT a même mis au point une méthode de coloration et de numération de ces grains. Cet index juxta-glomérulaire, qui est le nombre de granulations contenu dans 100 appareils juxta-glomérulaires, permet d'apprécier l'activité sécrétoire du rein.

2. Mode de sécrétion de la rénine

La rénine est sécrétée dans deux conditicns : la diminution de la pression de perfusion du rein et la privation de sel.

La diminution de la pression de perfusion est la condition réalisée par le clampage de l'artère. Dans l'expérience de GOLDBLATT (1934) il semble que ce soit la réduction des variations systoliques de la pression sanguine qui soit le stimulus adéquat. En effet, la perfusion du rein a une pression constante égale à la pression moyenne normale mais sans les variations systoliques habituelles provoque une libération de rénine.

D'autre part, la réduction de la pression de perfusion peut entraîner une libération de rénine, même si le débit sanguin rénal n'est pas diminué.

Le terme d'ischémie rénale employé pour définir les conditions de libération de la rénine n'est donc pas entièrement justifié.

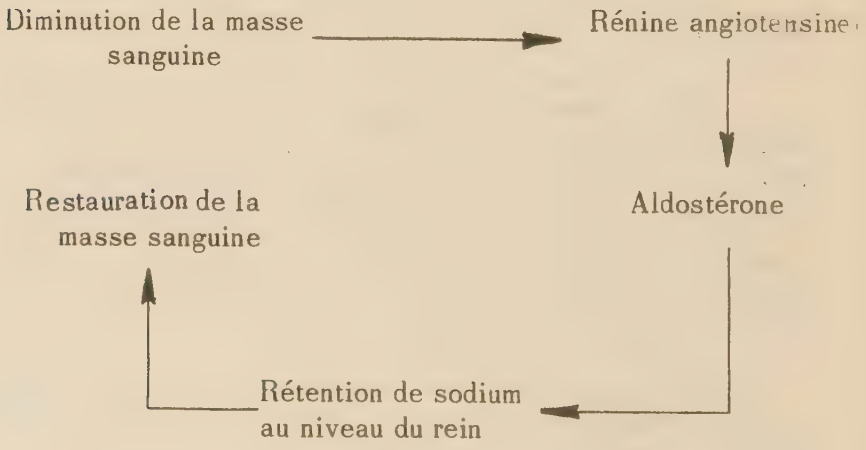
La réduction des variations de la pression sanguine s'observe dans le cas de réduction de la masse sanguine circulante et les cellules juxta-glomérulaires, ainsi stimulées pourraient donc être considérées comme des volo-récepteurs.

La deuxième condition est la diminution du taux du sodium dans le sang.

Ce fait est diversement interprété mais on sait qu'une perte de sodium provoque une réduction de la masse sanguine. Elle provoquerait la sécrétion de rénine par ce mécanisme.

3. Rôle physiologique

On peut concevoir que le système rénine-angiotensine participe à la régulation de la masse sanguine selon le schéma de GROSS et TOBIAN.



Il faut bien dire que cette conception est hypothétique et que certains hauteurs ne l'admettent pas. Le rôle de volo-récepteur attribué aux cellules de l'artère afférente est très contesté. De même il convient de signaler que l'origine de la rénine est attribuée par certains auteurs à la macula densa.

De toute façon, le système rénine-angiotensine est très probablement un élément de la régulation de l'élimination du sel par le rein.

4. Rôle pathologique

Nous avons dit l'intérêt suscité par GOLDBLATT lorsqu'il reproduisit expérimentalement des hypertensions artérielles avec leurs lésions artérielles caractéristiques et nous avons vu d'autre part que l'on a pu isoler dans le rein une substance indirectement vaso-constrictrice : la rénine.

De nombreux efforts furent faits pour préciser le rôle de la rénine dans l'hypertension. Il semble bien tout d'abord que la rénine ne résume pas le mécanisme de l'hypertension rénale de type GOLDBLATT.

En effet, l'injection d'extraits de rein à artère clampée reproduit l'hypertension et ses lésions vasculaires alors que la rénine purifiée est bien hypertensive mais ne provoque pas des lésions caractéristiques.

D'autre part, un certain nombre de faits expérimentaux laissent penser que le système rénine-hypertensine n'est impliqué qu'au début de l'évolution de l'hypertension et qu'un autre mécanisme prend ensuite le relai. Une hypertension ancienne n'est pas guérie par l'ablation du rein mal vascularisé et à ce stade on ne peut plus mettre en évidence de rénine dans le sang.

Enfin de nombreux faits ont attiré l'attention sur le rôle joué par le rein non clampé dans le genèse de l'hypertension et surtout

dans son entretien.

Ainsi FLOYER provoquant une hypertension chez des Rats par constriction d'une artère rénale, enlève au bout de six mois le clamp et voit la pression sanguine baisser sans toutefois revenir à son niveau normal. L'ablation du rein préalablement clampé fait alors remonter la tension à son niveau antérieur, alors que l'ablation de l'autre rein, dans un deuxième temps, la ramène à la normale. Ces faits expérimentaux ont été confirmés par des observations semblables faites chez l'Homme où des hypertensions ont été guéries par rétablissement d'une vascularisation normale d'un rein mal vascularisé et ablation du rein opposé.

La responsabilité du système rénine-angiotensine dans l'apparition de certaines hypertensions est donc certaine, bien que son rôle exact ne soit pas parfaitement élucidé.

Il est donc intéressant de chercher à caractériser directement cette substance dans le sang chez des sujets hypertendus et d'étudier les variations de son taux au cours de l'évolution d'une hypertension.

HELMER (1961) a ainsi pu, grâce à cette méthode de dosage, montrer que le sang de certains hypertendus contient une très grande quantité de rénine, et qu'il existe une très nette différence entre les hypertensions avec sténose de l'artère rénale où le taux est très élevé et les autres hypertensions où la rénine est absente ou en très petite quantité.

On peut également chercher à déterminer le rein qui sécrète la rénine. Pour cela, on recueille par cathétérisme de la veine cave du sang veineux provenant de chaque rein et l'on dose séparément l'angiotensine dans chaque échantillon.

S'il y a une lésion unilatérale (plaque d'athérone dans l'artère, coudure, bride ou rétrécissement congénital d'une artère rénale) on observe une grande quantité d'angiotensine du côté de la lésion et une quantité beaucoup plus faible dans le sang du rein opposé.

5. Rôle dans l'hyperaldostéronisme secondaire

On sait que l'angiotensine a la propriété de stimuler la sécrétion d'aldostérone (GENEST, 1964) et qu'une substance rénale, très probablement la rénine, joue un rôle dans certains cas d'hyperaldostéronisme provoqués par la diminution de la masse sanguine circulante.

C'est pourquoi on a pratiqué le dosage de la rénine dans ces cas d'hyperaldostéronisme secondaire pour tenter de préciser la part que le système rénine angiotensine prend dans le développement de la rétention sodée et des oedèmes au cours de certaines affections telles que l'insuffisance cardiaque, les cirrhoses et les néphroses.

Les premiers résultats (GENEST, 1964) montrent une augmentation nette du taux de la rénine dans ces affections.

2 — Dosage

a) Principe des diverses méthodes employées

Le dosage chimique de la rénine et de l'angiotensine n'est pas possible actuellement. On ne peut doser l'angiotensine que par des méthodes biologiques basées sur son activité vaso-constrictrice.

De nombreuses méthodes de dosage ont été préconisées. Elles consistent à mesurer soit le raccourcissement d'un fragment d'organe isolé contenant des fibres musculaires lisses, par exemple des fragments d'intestin ou de muscle utérin mis au contact de l'angiotensine, soit l'élévation de la pression sanguine d'un animal après injection intraveineuse d'angiotensine. Divers animaux, Chiens, Chats et Rats, ont été employés, soit intacts, soit après néphrectomie et ablation de la moelle. La néphrectomie a pour but de prolonger l'action de l'angiotensine, car le rein est riche en agiotensinase. L'ablation de la moelle (HERMANN, 1937) diminue le tonus

vasculaire périphérique et rend l'animal plus sensible aux faibles doses de produit vaso-constricteur. C'est ainsi que HELMER utilise le Chat néphrectomisé depuis deux jours, et démyélé. PEART utilise le Rat néphrectomisé, vagotomisé et dont le tonus sympathique est supprimé par une substance médicamenteuse.

Les dosages d'angiotensine se heurtent à une difficulté majeure. La rénine et l'angiotensine se trouvent dans le sang à un taux très faible qui ne peut être mesuré que par des méthodes d'une extrême sensibilité. Aussi de nombreux auteurs concentrent ces substances dans le plasma avant de les doser. En opérant sur de grandes quanités de plasma, ils les isolent par des procédés physiques, par exemple par chromatographie (SKEGGS, 1953 , GENEST, 1964) ou par des méthodes chimiques (SCORNIK, 1961). Parmi ces méthodes, seule celle de GENEST permet de déceler directement l'angiotensine présente dans le sang circulant. Avec les autres méthodes on dose l'angiotensine produite par la rénine après une incubation avec de l'angiotensinogène à 37° pendant un certain temps. L'expression du résultat est délicate puisqu'il faut exprimer la concentration d'un enzyme, la rénine, à partir du taux de la substance qui résulte de son activité enzymatique, l'angiotensine. L'angiotensine se forme, au cours de l'incubation, à une certaine vitesse qui est fonction de la teneur en rénine du plasma (BROWN, 1964). Aussi cet auteur mesure la quantité d'angiotensine formée à différents intervalles au cours de l'incubation et calcule la rénine plasmatique à partir de la vitesse de formation de l'angiotensine. La diversité des modes d'expression des résultats fait que les valeurs numériques fournies par les différents auteurs ne peuvent être facilement comparées.

b) La méthode de HELMER

La méthode que nous avons employée est la méthode de HELMER utilisant l'action in vitro de l'angiotensine sur les fibres musculaires lisses d'un fragment d'aorte isolée. Nous avons déjà décrit la préparation du réactif par la technique de FURCHGOTT et BHADRAKOM (1953). Cependant l'échantillon de sang dont on veut doser

l'activité ne peut être utilisé sans préparation. Il faut le débarrasser des autres produits vaso-constricteurs qu'il pourrait contenir, permettre la formation in-vitro de l'angiotensine dans l'échantillon de sang prélevé, et empêcher la dégradation de celle-ci par l'angiotensinase.

Préparation de l'échantillon de sang avant le dosage :

1 - Le sang est recueilli dans un tube contenant quelques gouttes d'héparine et centrifugé immédiatement. Les globules rouges sont rejetés, le plasma est prélevé.

2 - Le pH du plasma est amené à pH 5,5 par addition de quelques gouttes d'acide chlorhydrique décinormal. Il se forme une précipité.

3 - Le plasma, y compris le précipité, est dialysé.
Pour cela on le met dans des sacs de cellophane immergés dans un courant d'eau à la température de la pièce pendant 18 à 20 heures.

4 - Après dialyse, le plasma est réajusté au pH 5,5 et centrifugé.

5 - Le liquide clair surnageant est prélevé et mis à incuber une heure à 37°.

6 - Le plasma est alors rendu isotonique par addition de 0,25 ml d'une solution saturée de chlorure de sodium pour chaque 10 millilitre de plasma et son pH est ramené à 7,4 par adjonction de soude centinormale.

7 - Une petite quantité de plasma, de 1 à 3 millilitres est alors mesurée avec une pipette graduée et introduite dans la cuve à organe isolé pour le dosage. La contraction de l'aorte est enregistrée.

8 - Le plasma est congelé dès son prélèvement. Il est conservé à l'état congelé jusqu'au moment du dosage.

Cette préparation a pour but, comme nous l'avons dit, d'éliminer les substances vaso-constrictrices autres que le système rénine-angiotensine et de permettre la formation de l'angiotensine. L'héparine empêche la coagulation du sang et permet de prélever la totalité du plasma. Elle évite l'apparition des substances vaso-constrictrices libérées par la coagulation. La centrifugation élimine les globules rouges, riches en angiotensinase. La dialyse permet d'écarter les petites molécules vaso-constrictrices, en particulier les catécholamines.

L'incubation au pH 5,5 à 37° accélère la formation de l'angiotensine par la rénine à partir de l'angiotensinogène. A ce pH la rénine est active et l'angiotensinase ne l'est pas.

Enfin, après incubation, l'échantillon à doser est rendu isotonique et réajusté au pH 7,4 pour éviter de modifier le milieu dans lequel baigne l'aorte.

La contraction enregistrée est mesurée. Elle est comparée à des contractions provoquées par une quantité connue d'angiotensine synthétique.

La sensibilité de ce procédé a permis à HELMER de mettre en évidence une activité vaso-constrictrice du plasma chez des sujets normaux. Cette activité est augmentée ou diminuée selon les circonstances. Nous n'avons pas pu obtenir ce résultat et nous n'avons décelé d'angiotensine que dans des cas pathologiques.

Cette méthode paraît spécifique du système rénine angiotensine, et certains arguments semblent montrer que l'activité enzymatique que l'on mesure est bien celle de la rénine. Ainsi l'incubation à divers pH de rénine, extraite de reins humains, avec du plasma provoque une libération d'angiotensine maximale pour un pH de 5,5. Il en est ainsi pour le plasma d'Hommes hypertendus où la libération de substance vaso-constrictrice est maximale au pH 5,5. En incubant le plasma humain avec de l'angiotensine à divers pH, on obtient par action de l'angiotensinase présente dans le plasma une diminution du pouvoir vaso-constricteur. Cette diminution est maximale pour l'échantillon incubé au pH 7,5 qui correspond au

maximum d'activité de l'angiotensinase. Le pH optimum pour l'activité de la rénine dans un milieu dépourvu d'angiotensinase est de 7,5 à 8,5 mais l'activité de la rénine est peu diminuée au pH 5,5. Ce pH 5,5 permet donc à la rénine d'agir sur le substrat tout en empêchant l'effet de l'angiotensinase.

La substance vaso-pressive du plasma des hypertendus présente la même stabilité aux alcalins que la rénine extraite du rein humain. Elles ne sont ni l'une ni l'autre affectées par le maintien à un pH 9,8 pendant une heure.

La rénine extraite du rein humain a une faible activité sur le plasma de Rat et libère peu d'angiotensine à partir de ce plasma. La substance pressive décelée chez les hypertendus présente la même caractéristique. Du plasma d'hypertendu, actif sur l'aorte isolée, ne voit pas son activité accrue après incubation avec du plasma de Rat, mais voit au contraire son activité accrue après incubation avec du plasma humain ou de Chat. Dans le premier cas, la substance contenue dans le plasma humain n'a pas eu d'action sur l'angiotensinogène de Rat, alors que dans le deuxième cas elle a transformé l'angiotensinogène plasmatique de Chat et d'Homme en angiotensine.

La vitesse de formation de l'angiotensine est environ 200 fois plus grande à 37 ° qu'à 5°, que ce soit à partir de la rénine extraite de rein humain ou des échantillons de plasma prélevés chez les hypertendus.

L'incubation de plasma actif d'hypertendus aboutit à une diminution du taux de l'angiotensinogène. Un plasma inactif incubé de la même façon ne montre pas de diminution du taux de cette substance.

L'étude du produit vaso-constricteur responsable de l'activité du plasma des hypertendus montre qu'il a les mêmes propriétés physiques et chimiques que l'angiotensine, et qu'il est détruit de la même façon par l'angiotensinase, la trypsine et la chymotrypsine.

Enfin, il est d'origine rénale, car sa concentration est plus élevée dans les veines périphériques.

Par conséquent, la substance vaso-constrictrice détectée dans le plasma par cette méthode a les mêmes propriétés que la rénine à divers points de vue : comportement dans des milieux de pH différents ou de températures différentes, stabilité en milieu alcalin, action sur l'angiotensinogène des plasmas du Rat, du Chat et de l'Homme et destruction par différents enzymes.

Ces preuves indirectes semblent montrer que c'est donc bien la rénine que l'on dose ainsi.

HELMER (1963) a tenté récemment de chiffrer en unités de rénine les résultats obtenus. Pour cela il a utilisé la constante de la réaction de premier ordre établie par PLENTL et PAGE (1943).

$$K = \frac{2 - \log_{10} 100 \frac{M-X}{M}}{t} \times 2{,}303$$

où M est la quantité d'angiotensine formée par incubation de plasma avec un excès de rénine, c'est-à-dire la concentration en angiotensinogène, X la quantité d'angiotensine formée par la rénine et l'angiotensinogène du plasma pendant le temps t exprimé en minutes, K est une constante indépendante de la concentration en angiotensinogène et proportionnelle à la concentration de la rénine. L'unité de rénine est égale à $K \times 10^2$.

Nous n'avons pas encore exprimé nos résultats de cette manière. Nous mesurons la quantité d'angiotensine produite après incubation à 37° pendant une heure, en nanogramme par millilitre ou en microgramme par litre. Les chiffres que nous avons obtenus ont donc une valeur relative, dans le cadre de notre expérience et nous nous contentons de comparer les résultats chez divers sujets, ou chez le même sujet au cours de l'évolution de sa maladie.

3 – Résultats

Nous n'entreprendrons pas de présenter ici toutes les mesures que nous avons faites, ni de les discuter en fonction des données cliniques. Nous nous contenterons de donner quelques résultats typiques dans certaines affections pour illustrer l'intérêt de ce dosage.

Le premier cas est celui d'un hypertendu chez lequel fut reconnu par les méthodes diagnostiques habituelles, en particulier l'aortographie, un trouble de l'irrigation du rein droit. Le rein fut enlevé, et au cours de l'intervention, on observa un athérome de l'aorte avec sténose ostiale de l'artère rénale droite.

On fit au cours de l'intervention un prélèvement de sang dans les deux veines rénales et dans une veine périphérique. Comme le montrent les courbes illustrées par la figure 7, le sang prélevé dans la veine rénale droite avec une puissante activité vaso-constrictrice, alors que le sang prélevé dans une veine périphérique avait une activité bien moindre et que le sang de la veine rénale gauche avait une activité très faible.

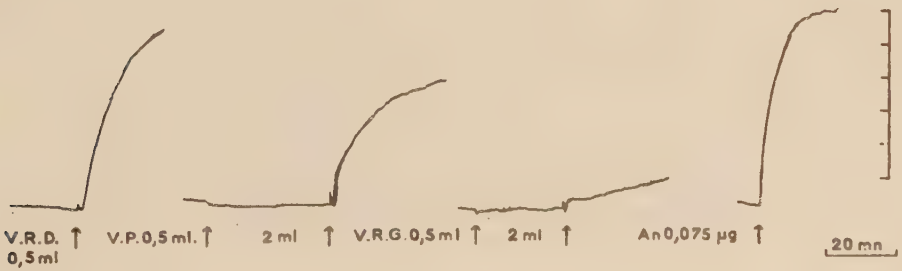


FIG. 7 - Dosage de l'angiotensine chez un hypertendu (sténose ostiale de l'artère rénale droite)

Contractions de l'aorte provoquées par :
V.R.D. : 0,5 ml de sang de la veine réuale droite.
V.P. : 0,5 ml, puis 2 ml de sang veineux périphérique.
V.R.G. : 0,5 ml, puis 2 ml de sang veineux de la veine rénale gauche.
An : 0,075 microgrammes d'angiotensine.

Le deuxième cas illustré par la figure 8 est celui d'une malade atteinte de néphrose avec volumineux oedèmes. Les dosages ont porté sur des échantillons de sang veineux périphérique.

FIG. 8 - Dosage de l'angiotensine chez une néphrotique.
Contractions de l'aorte provoquées par :
t : 25 ng d'angiotensine.
1 : 2 ml de plasma au début de l'affection. (la malade présente un anasarque)
2 : 2 ml de plasma en cours d'affection (la malade présente des oedèmes nets)
3 : 2 ml de plasma après guérison clinique.

Le premier dosage a été effectué alors que la malade présentait un anasarque, le deuxième des oedèmes nets, le troisième alors que les oedèmes avaient disparu.

On voit que la rénine se trouvait en quantité importante au moment de la poussée d'oedèmes et a disparu lors de l'amélioration clinique.

Le troisième cas, illustré par la figure 9 , est celui d'une malade atteinte d'une néphropathie gravidique avec hypertension, oedèmes et protéinurie. Une quantité anormale de rénine a été décelée dans le sang veineux périphérique. La rénine a rapidement disparu du sang dès qu'il fut mis un terme à la grossesse, tandis que parallèlement les troubles cliniques s'amendaient.

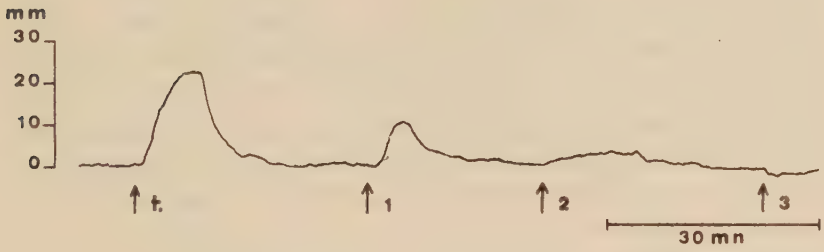


FIG. 9 - Dosage de l'angiotensine chez une malade présentant une éclampsie.

Contractions de l'aorte provoquées par :
t : 25 ng d'angiotensine.
1 : 2 ml de plasma prélevé 2 jours avant l'accouchement
2 : 2 ml de plasma prélevé quelques heures après l'accouchement.
3 : 2 ml de plasma prélevé quinze jours après l'accouchement.

B – DOSAGE DES CATECHOLAMINES URINAIRES

1 - Notions théoriques

Les catécholamines, c'est-à-dire les 3, 4, dihydroxy-phenylamines, comprennent : l'adrénaline et la noradrénaline qui ont des formules chimiques très voisines. L'adrénaline est méthylée, alors que la noradrénaline ne l'est pas. Elles ont aussi des actions très semblables, mais à des doses différentes. Toutes deux ont une activité vaso-constrictrice lorsque la dose employée est suffisante.

L'origine de l'adrénaline est essentiellement médullo-surrénalienne. Il n'en est pas de même pour la noradrénaline. En effet, après surrénalectomie totale bilatérale, le taux d'élimination urinaire de l'adrénaline est très diminué, alors que celui de la noradrénaline est peu modifié. La noradrénaline est libérée surtout par les extrémités des fibres post-ganglionnaires du système orthosympathique. En fait, la médullo-surrénale et les terminaisons nerveuses sympathiques contribuent à la production de ces deux catécholamines à des degrés différents.

a) Rappel historique

L'activité vaso-constrictrice de l'extrait de glande surrénale fut découverte en 1895, par OLIVER et SCHAFER. A la même époque SCZIMONOWICZ et CYBULSKI constatèrent que le sang veineux surrénalien était hypertenseur. Quelques années plus tard : VON FURTH (1900), ALDRICH et TAKAMINE (1901) isolèrent une substance active qui est l'adrénaline. PAULY (1903), DAKIN et STOLZ (1905) firent la synthèse de cette hormone.

b) Métabolisme

La biogénèse des catécholamines est maintenant connue. Par contre, le mécanisme de leur dégradation est plus obscur. On sait que l'adrénaline et la noradrénaline sont rapidement transformées en catabolites qui n'ont été identifiés que récemment et d'une manière incomplète.

c) Excrétion urinaire

Les catécholamines sont éliminés par les urines sous diverses formes. D'après MALMEJAC (1964) la majeure partie de ces formes d'élimination est constituée de dérivés méthylés acides inactifs : 1 °/° seulement de ces formes d'élimination serait doué de pouvoir vaso-constricteur.

VON EULER (1956) a étudié l'élimination des catécholamines injectées par voie sous-cutanée à des sujets normaux. Ces expériences ont montré que 2,3 °/° de l'adrénaline et 3,8 °/° de la noradrénaline injectées se retrouvent dans les urines sous forme libre biologiquement active, ou conjuguée, inactive. Ces deux formes sont en quantités à peu près égales. La majeure partie des catécholamines injectées est métabolisée.

Taux d'excrétion physiologique

D'après Mme CHAIX (1957), chez l'Homme normal, l'excrétion urinaire d'adrénaline est de 1,6 à 8 microgrammes par 24 heures, et celle de noradrénaline de 15 à 50 microgrammes par 24 heures. Les taux d'excrétion urinaires trouvés par d'autres auteurs sont compris entre ces limites.

Le taux d'excrétion des catécholamines varie avec les conditions physiologiques. Ainsi l'excrétion diurne est plus importante que l'excrétion nocturne. Elle est également accrue pendant le travail musculaire et pour VON EULER (1956) elle serait multipliée par dix au cours du travail pénible.

Taux d'excrétion pathologique

L'excrétion des catécholamines est très augmentée au cours des tumeurs du tissu chromaffine, appelées médullo-surrénalomes ou phéochromocytomes. VON EULER (1955) estime que le taux de cette excrétion pathologique peut atteindre 100 à 200 microgrammes pour 100 millilitres d'urine, c'est-à-dire être près de 1000 fois plus forte qu'à l'état normal.

L'excrétion urinaire des catécholamines est le reflet de la sécrétion médullo-surrénalienne.

2 — Dosage

Le dosage des catécholamines urinaires permet d'apprécier le fonctionnement de la glande médullo-surrénale.

Ce dosage présente un intérêt particulier dans le cas de sujets suspects de phéochromocytomes : cet examen simple peut être un élément de diagnostic de cette affection.

a) Principe des diverses méthodes employées

De nombreuses méthodes, tant chimiques que biologiques, ont été mises au point.

Les méthodes de dosage chimiques, les plus utilisées, sont la méthode fluorométrique et la méthode chromatographique. Les méthodes colorimétriques ne sont pas très sensibles et sont peu utilisées. Les méthodes fluorométriques utilisent la propriété de certains dérivés de l'adrénaline de devenir fluorescents en milieu alcalin, après oxydation et cyclisation de la chaine latérale. La méthode par chromatographie de partage sur papier a été mise au point par deux chimistes.

Elle satisfait aux exigences du dosage car elle permet de séparer les deux sortes de catécholamines et de mesurer leur taux.

Les méthodes biologiques de dosage des catécholamines utilisent les actions pharmacodynamiques de ces drogues, soit sur l'animal entier, soit sur un organe isolé.

La plupart des animaux de laboratoire, Chiens, Chats et Rats ont été utilisés. On étudie le plus souvent les effets sur la pression sanguine de l'animal après injection de l'échantillon à doser. Dans le but de rendre les animaux plus sensibles aux variations tensionnelles provoquées, plusieurs préparations ont été mises au point comme la vagotomie, l'animal «sans moelle» (HERMANN, 1937), la ligature des veines surrénales. On mesure parfois l'effet hyperglycémiant des catécholamines.

La technique des organes isolés utilise divers réactifs biologiques pour le dosage des catécholamines : l'utérus de Ratte, l'intestin de Crapaud, la membrane nictitante du Chat et le rectum de Poulet. Celui-ci a été utilisé par VON EULER (1955) et semble être un réactif sensible. Les catécholamines provoquent le relâchement des fibres lisses de ces différents organes. Sur d'autres organes isolés, comme l'aorte, les catécholamines provoquent une contraction.

Ces méthodes permettent de doser de façon globale l'adrénaline et la noradrénaline. Cependant on peut aussi doser séparément les deux catécholamines en choisissant les réactifs biologiques spécifiques, ou chez un même animal par comparaison des résultats avant et après administration de sympatholytiques qui empêchent électivement l'action de la noradrénaline.

VON EULER (1956) a comparé les résultats obtenus par quelques méthodes tant chimiques que biologiques. Il dosa les catécholamines par fluorométrie et par deux méthodes biologiques utilisant le rectum de Poulet et l'action sur la pression sanguine de l'animal. Il dosa ainsi séparément l'adrénaline et la noradrénaline. Il obtint des résultats très différents avec la méthode chimique et les méthodes biologiques. Il observa des taux plus élevés de noradrénaline avec la méthode biologique et des taux plus élevés d'adrénaline avec la méthode fluorométrique.

b) Méthode utilisée

La méthode que nous utilisons est la méthode mise au point par FURCHGOTT et BHADRAKOM et appliquée aux catécholamines urinaires par HELMER (1957).

Après avoir préparé l'aorte selon la méthode décrite au début de ce travail et avoir attendu que son relâchement soit complet, une certaine quantité d'urine à doser est mesurée à l'aide d'une pipette jaugée et mise dans la cuve à organes. L'urine se dilue dans le liquide de KREBS où baigne l'aorte.

Les urines sont utilisées sans préparation. Cependant il faut prendre quelques précautions. Les urines doivent être acidifiées aussitôt après leur émission. Pendant le transport au laboratoire elles doivent être maintenues au froid et à l'obscurité. Le dosage doit être effectué le plus tôt possible après le prélèvement. L'acidification des urines empêche leur fermentation, le maintien au froid et à l'obscurité est destiné à éviter la dégradation de l'adrénaline par oxydation.

Comme la concentration de l'adrénaline peut être très grande, pour éviter une forte contraction de l'aorte qui la rendrait inutilisable par la suite, on commence par placer dans la cuve à organe une faible quantité d'urine, par exemple un dixième de millilitre, puis on essaie des quantités plus importantes de l'ordre du millilitre.

L'évaluation quantitative des résultats se fait par comparaison avec la quantité d'adrénaline qu'il faut appliquer, pour obtenir la même contraction de l'aorte.

Sensibilité de la méthode.

Avec l'adrénaline synthétique, nous avons obtenu une réponse de l'aorte pour des quantités voisines de 10 nanogrammes qui, dilués dans les 20 millilitres du liquide de KREBS contenus dans l'éprouvette, donne une concentration de 0,5 nanogramme par millilitre.

Spécificité de la méthode

Cette méthode dose en réalité la totalité des substances pressives de l'urine. Elle n'est pas spécifique de l'adrénaline. Mais l'essentiel de cette action pressive est dû aux catécholamines.

Dans le cas de tumeurs médullo-surrénaliennes, la quantité de catécholamines excrétées est très augmentée et peut être 1000 fois supérieur à la normale. Par conséquent la constatation d'une augmentation considérable de l'activité pressive des urines constitue un bon argument de cette affection.

3 – Résultats

Nous avons dosé les catécholamines urinaires dans certains cas d'hypertensions et chez des sujets normaux. Nous avons toujours trouvé une activité pressive analogue à celle trouvée par certains auteurs déjà cités.

A titre d'exemple, nous présentons un résultat obtenu dans un cas pathologique. Il s'agissait d'un homme de 46 ans dont la pression sanguine artérielle maximale était de 20 cm Hg avec des paroxysmes à 28 cm Hg. Les pressions sanguines minimales correspondantes étaient de 12 cm Hg et de 15 cm Hg. Nous avons trouvé un taux de catécholamines augmenté qui était de l'ordre de 100 microgrammes pour 100 millilitres d'urine. En effet, 1 millilitre de ses urines provoquait la même contraction de l'aorte que 1 microgramme d'adrénaline *(figure 10)*.

Ce résultat était en accord acec celui obtenu par les méthodes chimiques pratiquées. Le taux d'acide vanyl-mandélique était aussi augmenté dans les urines. Cependant au cours d'explorations ultérieures le taux des catécholamines urinaires est redevenu normal. Chez ce malade les investigations cliniques et para-cliniques pratiquées n'ont pas permis de conclure à un phéochromocytome tout au moins secrétant de façon continue.

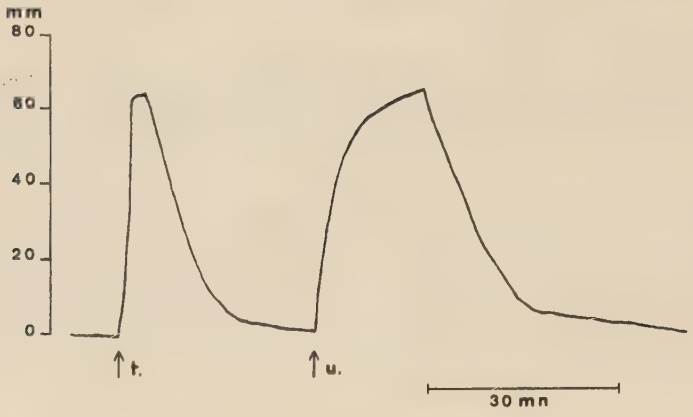


FIG. 10 - Dosage des catécholamines urinaires chez un hypertendu.
Contractions de l'aorte provoquées par :
t : 1 microgramme d'adrénaline.
u : 1 millilitre d'urine.

Nous n'avons pas eu l'occasion de doser les catécholamines dans les urines de sujets atteints de phéochromocytome authentifié On sait la rareté de cette affection.

Les résultats obtenus avec cette méthode de dosage sur aorte isolée sont comparables à ceux obtenus avec les méthodes chimiques.

CONCLUSION

Ce travail porte sur le dosage biologique de l'angiotensine dans le sang et des catécholamines dans les urines.

Ce dosage repose sur la mesure de la contraction des fibres musculaires lisses contenues dans la partie thoracique de l'aorte du Lapin.

Ce travail comprend deux parties.

Dans la première sont décrites la préparation utilisée pour le dosage (ruban d'aorte maintenu en survie dans une cuve à organe isolé) et la méthode de préparation à partir du sang d'une solution contenant de l'angiotensine.

Dans la seconde l'intérêt de cette méthode est illustrée par la présentation de dosages faits dans certaines affections (hypertension d'origine rénale, syndrôme oedémateux, éclampsie).

Le rôle physiologique du système rénine-angiotensine est rappelé ainsi que la participation de ce système dans certaines hypertensions et certains hyperaldostéronismes secondaires.

Vu, le Président de Thèse,
Yves LAPORTE

Vu, le Doyen,
l'Assesseur,
P.BLANC

Vu et permis d'imprimer,
Toulouse, le 18 JUIN 1964

Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université,

A. LOYEN.

BIBLIOGRAPHIE

ALDRICH T.B. - A preliminary report on the active principle of the suprarenal gland. - *Amer. J. Physiol., 1901, 5, 457-461*

BIRON P., KOIW E., NOWACZYNSKI W., BROUILLET J., GENEST J. - The effect of intravenous infusions of Val. 5 angiotensine II and other pressor agents in urinary électrolytes and corticosteroïdes including aldosterone . - *J. Clin. Investig., 1961, 40, 338-347.*

BEVAN J.A. - The use of the rabbit aorta strip in the analysis of the mode of action of epinephrine on vascular smooth muscle. - *J. of Pharmac. and Exp. Ther., 1960, 129, 417-427.*

BRAUN-MENENDEZ E., FASCIOLO J.C., LELOIR L.F., MUNOZ J.M. La substance hypertensive extraite du sang des reins ischiémiés - *C.R. Soc. Argent. Biol., 1940, 133, 731-733.*

BROWN J. J., DAVIES D.L., LEVER A.F., ROBERTSON J.I.S. . - Variations in plasma renin concentration in séveral physiological and pathological states . - *Canad. Med. Ass. J., 1964, 90, 201-205.*

BUMPUS F.M., SCHWARZ H., PAGE I. H. - Synthesis and pharmacology of the octapeptid angiotensin. - *Science U.S.A., 1957, 125, 886-887.*

BUMPUS F.M., SMEBY R.R. - Importance of amino acid side groups for biologic activity of angiotensin II. - *Circulation, 1962, 25, 183-185.*

Mme CHAIX P. - Métabolisme de l'adrénaline et de la noradrénaline dans : l'adrénaline et la noradrénaline dans la régulation des fonctions homéostatiques - *Colloques Nat. du C.N.R.S. Lyon, 1957, C.N.R.S. éd. 1958, 99-120.*

CYBULSKI N. - Centrabl. Physiol., 1895, 9, 171-176.

DAKIN M.D. - The synthesis of a substance allied to adrenalin. *Proc. Roy. Soc. (London) série B, 1905, 76, 491-497.*

DALLEMAGNE M,J. - Pharmacodynamie générale (p. 1-96), in Pharmacodynamie biochimique, 1954, I vol. 1008 p. Masson édit. Paris.

EULER (Von) U.S. - Noradrenaline. - *C. Thomas Publisher, Springfied, Ill. U.S.A. 1956*

EULER (Von) U.S., FLODING I. - Fluorométric estimation of adrénaline and noradrénaline in urines. - *Acta Physiol. Scand., 1955, 33 (suppl. 118), 45-56.*

FASCIOLO J.C., VITO (de) E., ROMERO J.C., CUCCHI J.N. - The renin content of the blood of human and dogs under several conditions. - *Canad. Med. Ass. J., 1964, 90, 206-209.*

FLOYER M.A. - Rôle of the kidney in experimental renal hypertension. *Brit. M. Bull. 1957, 13, 29-52.*

FLOYER M.A. - Further studies on the mecanism of experimental hypertension in the rat. - *Clin. Sc., 1955, 14, 163-181.*

FURCHGOTT R.F., BHADRAKOM S. - Reactions of strips of rabbit aorta n to epinephrine isopropylarterenol, sodium nitrite and other drugs. - *J. of Pharmac. Exp. Ther., May 1953, 108, 129-143.*

FURTH (Von) C. - Zur Kenntnis der brenzkotechinahnlichen substanz in dem Nebennierem. - *Stschr. F. Physiol. Chem., 1900, 29, 105-123.*

GOLDBLATT H., LYNCH J., HANZAL R.F., SUMMERVILLEW. - Studies of experimental hypertension production, of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischiemia. - *J. Exp. Med., 1934, 59, 347-352.*

GOLDBLATT H. - The renal origin of hypertension - C.*Thomas Publisher, Springfied, Ill. U.S.A., 1948.*

GROSS F. - Renin and hypertensin physiologische oder pathologische wirkstoffe. - *Klin. Wochschr., 1958, 15, 693-706.*

HOUSSAY B.A., FASCIOLO J.C. - Sécrétion hypertensive du rein ischiémié - *C.R. Soc. Argent. Biol., 1938, 127, 147-149.*

HARTROFT P.M., HARTROFT W.S. - Studies on juxta glomerular cells ; variations produced by sodium chloride and desoxy corticosterone acetate. - *J. Exp. Med., 1953, 97, 415-428.*

HELMER O.M. - Pressor substances in renal vein blood of hypertensines. *Med. Clin. North. America, 1961, 45, 309-320.*

HELMER O.M. - Renin activity in blood from patients with hypertension. - *Canad. Med. Ass. J., 1964, 90, 221-225.*

HELMER O.M. - Estimation of urinary catechol amines by means of strip of rabbit aorta as aid in diagnostic of phéochomocytoma - *J. Lab. Clin. Med., 1957, 50, 737-748.*

HELMER O.M., JUDSON W.E., SANDERS. - The quantitative determination of renin in the plasma of patients with arterial hypertension - *Circulation U.S.A., 1963, 27, 1050-1060*

HERMANN H., CHATONNET J., VIAL J. - Les procédés biologiques de dosage de l'adrénaline et de la noradrénaline dans les tissus et les liquides organiques. - L'adrénaline et la noradrénaline dans la régulation des fonctions homéostatiques, - *Colloques Nat. du C.N.R.S. Lyon, 1957, C.N.R.S. éd. 1958, 64-79.*

HERMANN H., MORIN G., JOURDAN F., VIAL J. - De l'utilisation du «chien sans moëlle» pour la mise en évidence de la sympathine dans le sang. - *C.R. Soc. Biol., 1937, 125, 287-289.*

JUDSON W.E. - Pressor activity of dialysed plasma of patients with primary and secondary renal hypertension. - *Am. J. Cardiol., 1962, 9, 710-716.*

JUDSON W.E., HELMER O.M. - Determination of constrictor substance in plasma by means of a strip of rabbit aorta as an aid in the differential diagnosis of renal vascular occlusive disease - *J. Lab. Clin. Med., 1960, 56, 828-829.*

KREBS H.A. - Body size and tissue respiration . - *Biochem. Biophys. Acta, 1950, 4, 249-267.*

KOHLSTAEDT K.G., HELMER O.M. , PAGE I.H. - Activation of renin by blood colloids. - *Proc. Soc. Esper. Biol. and Med., 1938, 39, 214-218.*

LITTER M. - Estudios cuantitativos sobre el equilibrio entre los transmisores quimicos autonomicos y curvas : dosis-respuesta, de la acetylcholina adrenalina, noradrenalina e histamina - *Sem. Med. (Buenos Aires), 1954, 104/21, 569-586.*

MALMEJAC J. - Activity of the adrenal medulla and its regulation. - *Physiol. Rev., 1944, 44, 186-218.*

MERIEL P., SUC J.M., GERAL J.P., SALVADOR M., TON,THAT-HUNG, & PONTONNIER G. - Dosage biologique de l'angiotensine. Résultats préliminaires dans les états oedémateux et dans l'hypertension artérielle. - 1964, (sous presse).

OBERLING C.H., HATT P.Y. - Etude de l'appareil juxtaglomérulaire du rat au microscope électronique. - *Annales d'anatomie pathologique, 1960, 5, 441-474.*

OLIVER G., SCHAFER E.A. - On the physiological action of extracts of pituitary, body, and certain other glandular organs . *J. Physiol.(London), 1895, 18, 276-280.*

PAGE I.H. BUMPUS F.M. - Angiotensin. - *Physiol. Rev. ; 1961, 41, 331-390.*

PAULY H. - Zur Kenntis der adrenalins - *Ber. Dtsch. Chem. Ges., 1903, 36/ 1, 2944-2949.*

PEART W.S. - A new method of large scale préparation of hypertensin with a note on its assay - *Biochem. J., 1955, 59, 300-302.*

PEART W.S. - The isolation of a hypertensin - *Biochem. J., 1956, 62, 520-527.*

PENTL A., PAGE I.H. - A kinetic analysis of the renin-angiotensin pressor system and the standardisation of the enzymes renin and angiotensinase - *J. Exp. Med., 1943, 5, 367-386.*

Proceedings of the international symposium on angiotensin sodium and Hypertension - *Can. Med. Ass. J. , 1964, 90.*

SCORNIK, PALADINI A.C. - Angiotensine blood levels in dogs with experimental renal hypertension - *Am. J. Physiol., 1961, 201, 526-530.*

SCHWYZER R. - Synthetic pathways to naturally occuring polypeptides - Rec. *Chem. Progr. U.S.A., 1959, 20, 147-167.*

SCHWYZER R. - Chemistry of synthetic angiotensin. - *Circulation, 1962, 25, 175-181.*

SKEGGS L.T., KAHN J.R., MARSH W.H. - A method of assaying small amounts of hypertensin. - *Lab. Invest., 1953, 2, 109-114.*

STOLZ F. - Ber. Dtsch. Chem. Ges., 1905, 47/4, 4149-4198.

SZYMONOVICZ W. - Anzeiger der akademic der Wissenschalten- Krakau, *1895, (voir Cybulski).*

TAKAMINE J. - Active principle of supra-renal body - *J. Physiol. (London), 1901, 2, 27-30.*

TIGERSTEDT, BERGMAN - XII° congrès Int. Med. Moscou, *1897.*

TOBIAN L. - Physiology of juxtaglomerular cells - *Ann. Intern. Med. 1960, 52, 395-410.*

VEYRAT R., CHAMPLAIN J. (de), BOUCHER R., GENEST J. - Measurement of human arterial renin activity in some physiological and pathological states - *Canad. Med. Am. J., 1964, 90, 215-220.*

TABLE DES MATIERES

N° de Pages

AVANT-PROPOS 11

I - DESCRIPTION DE LA METHODE DE MESURE DES SUBSTANCES VASO-CONSTRICTRICES 13

A - MOYEN DE MESURE UTILISE 13

1 - Préparation de l'aorte isolée de Lapin selon la technique de FURCHGOTT et BHADRAKOM 13

2 - Description de l'appareil d'enregistrement 14

3 - Description de l'appareil à organe isolé 15

B - UTILISATION DE L'APPAREILLAGE 17

C - RESULTATS 17

D - SENSIBILITE DE LA METHODE 23

II - APPLICATIONS PRATIQUES 25

A - DOSAGE DE L'ANGIOTENSINE DANS LE SANG 25

1 - Le système rénine-angiotensine 26

a) Rappel historique 26
b) Nature chimique de la rénine et de l'angiotensine .. 28
c) Effets pharmacologiques de l'angiotensine 29
d) Rôle physiologique et pathologique 30

2 - Dosage 35

a) Principe des diverses méthodes employées 35
b) La méthode de Helmer 36
Réalisation pratique
Spécificité et sensibilité

3 - Résultats 41

B - DOSAGE DES CATECHOLAMINES URINAIRES 44

1 - Notions théoriques 44

a) Rappel historique 44
b) Métabolisme 45
c) Excrétion urinaire 45

2 - Dosage 46

a) Principe des diverses méthodes employées 46
b) La méthode utilisée 48

3 - Résultats 49

CONCLUSION 51

BIBLIOGRAPHIE 53

Imprimé au CENTRE D'EDITIONS
UNIVERSITAIRES DE L'A.G.E.T.
15, rue des Lois à TOULOUSE -
- Juin 1964 -